

46-  
46-

**This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

**Defective images within this document are accurate representations of  
the original documents submitted by the applicant.**

**Defects in the images may include (but are not limited to):**

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORLED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



PCT

世界知的所有権機関  
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<b>(51) 国際特許分類7</b> C07K 14/46, A61K 38/02, A61P 31/04, 31/10, B32B 33/00	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO00/59937</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 2000年10月12日(12.10.00)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP00/02053  <b>(22) 国際出願日</b> 2000年3月30日(30.03.00)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平11/96847 1999年4月2日(02.04.99) JP 特願2000/30690 2000年2月8日(08.02.00) JP  <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> 株式会社 片山化学工業研究所 (KATAYAMA CHEMICAL INC.)[JP/JP] 〒533-0023 大阪府大阪市東淀川区東淡路2丁目10番15号 Osaka, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 川口芳広(KAWAGUCHI, Yoshihiro)[JP/JP] 〒533-0023 大阪府大阪市東淀川区東淡路2丁目10番15号 株式会社 片山化学工業研究所内 Osaka, (JP) <b>(74) 代理人</b> 野河信太郎(NOGAWA, Shintaro) 〒530-0047 大阪府大阪市北区西天満5丁目1-3 南森町パークビル Osaka, (JP)		<b>(81) 指定国</b> AU, CN, KR, NZ, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)  <b>添付公開書類</b> 国際調査報告書
<b>(54) Title:</b> SILVER-CONTAINING COMPLEX PROTEIN AND ANTIBACTERIAL/ANTIFUNGAL AGENTS AND ANTIBACTERIAL/ANTIFUNGAL PAPERS WITH THE USE OF THE SAME  <b>(54)発明の名称</b> 銀含有複合蛋白質ならびにそれを用いた抗菌・抗かび剤および抗菌・抗かび紙  <b>(57) Abstract</b> A water-insoluble silver-containing complex protein composed of a water-soluble protein containing from 0.1 to 200 $\mu\text{mol/g}$ of active amino group in the protein and a silver salt. Namely, a water-insoluble complex protein having a high silver content wherein silver, which has antibacterial/antifungal properties, is hardly liberated from the protein.		

## (57)要約

本発明によれば、蛋白質中の活性チオール基の含有割合が0.1～200  $\mu$ モル/gである水可溶性の蛋白質と銀塩とから形成されてなる水不溶性の銀含有複合蛋白質、ならびにそれを用いた抗菌・抗かび剤および抗菌・抗かび紙、すなわち、抗菌・抗かび性の銀が蛋白質から容易に遊離せず、しかも銀含有率の高い水不溶性の複合蛋白質、ならびにそれを用いた抗菌・抗かび剤および抗菌・抗かび紙を提供することができる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサオ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	MN	モンゴル	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MX	メキシコ	US	米国
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MZ	モザンビーク	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェッコ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
		KR	韓国				

## 明 細 書

銀含有複合蛋白質ならびにそれを用いた抗菌・抗かび剤および抗菌・抗かび紙

5

## 技術分野

本発明は抗菌・抗かび性を有する新規な銀含有複合蛋白質、ならびにそれを用いた抗菌・抗かび剤および抗菌・抗かび紙に関する。

## 10 背景技術

近年、医療用機械器具、文具類、繊維製品、紙製品、日用雑貨品や浴用製品などにおいて、健康衛生面に配慮して、かびや細菌などの各種微生物が繁殖しないように抗菌・抗かび処理を施したものが多く用いられている。例えば、病院においては、院内感染を防止する観点から、抗菌・  
15 抗かび性を付与したプラスチック製の文具類や器具などが用いられている。このように人体や食品などに直接接触するものについては、より高い安全性が求められ、抗菌・抗かび性能の優れた抗菌・抗かび剤および  
それらで処理した製品の開発が望まれている。

このような抗菌・抗かび剤として、水不溶性の硬蛋白質（例えば卵殻  
20 膜、羽毛、羊毛、絹などに含有される蛋白質、ならびにこれらから分離したコラーゲン、エラスチン、絹フィブロインなど）に、銀、銅、亜鉛などの抗菌・抗かび性金属を吸着させた抗菌・抗かび剤が提案されている（特開平6-65013号公報、特開平8-188513号公報および特開平8-258235号公報参照）。

25 これらの抗菌・抗かび剤は、例えば、卵殻膜粉末と硝酸銀水溶液とを

混合・攪拌し、得られた混合溶液中の沈殿を濾取・水洗・脱水および乾燥することにより得られている(例えば、特開平6-65013号公報、[0011]参照)。

5      しかしながら、このようにして得られた抗菌・抗かび剤は、各種製品に十分な抗菌・抗かび活性を付与することができなかった。その要因としては、抗菌・抗かび剤中の抗菌・抗かび性金属の含有率が低いこと、および蛋白質と抗菌・抗かび性金属との結合が物理的あるいはイオンの弱い吸着によるもので、水洗などにより抗菌・抗かび性金属が蛋白質から容易に遊離することが考えられる。

10      他方、日本薬局方には、銀と蛋白質との化合物としてプロテイン銀が記載されている。銀と蛋白質との化合物は、銀イオンとの結合によって高次の構造変化を起こす水不溶性のペプチドと、分子内にほとんどチオール基を有さないために銀イオンと結合しにくい水可溶性のペプチドとの共役により構成されるペプチド集合体として存在している。

15      したがって、プロテイン銀を医薬品以外の用途に用いた場合、プロテイン銀が容易に溶出してしまい、抗菌・抗かび剤としての十分な効果が得られない。

他方、抗菌・抗かび紙の有効成分としては、銀、銅、亜鉛などの無機系金属化合物が数多く開発されている。これらの無機系金属化合物の作用機構は明らかではないが、金属イオンとして微生物体内に吸収された有効成分が、微生物の呼吸や電子伝達系などの基礎代謝あるいは微生物の細胞膜における物質移動を阻害することにより、抗菌・抗かび性を発現しているものと考えられている。しかしながら、これらの無機系金属化合物からなる有効成分は、樹脂系バインダーなどを併用しないと紙に  
20      塗布(固着)され難いという問題があった。  
25

本発明は、抗菌・抗かび性の銀が蛋白質から容易に遊離せず、しかも銀含有率の高い水不溶性の複合蛋白質、ならびにそれを用いた抗菌・抗かび剤および抗菌・抗かび紙を提供することを課題とする。

## 5 発明の開示

かくして、本発明によれば、蛋白質中の活性チオール基の含有割合が $0.1 \sim 200 \mu\text{mol/g}$ である水可溶性の蛋白質と銀塩とから形成されてなる水不溶性の銀含有複合蛋白質が提供される。

また、本発明によれば、上記の銀含有複合蛋白質を有効成分として含有する抗菌・抗かび剤が提供される。

さらに、本発明によれば、上記の抗菌・抗かび剤で紙と処理された抗菌・抗かび紙が提供される。

## 図面の簡単な説明

15 第1図は、本発明の銀含有複合蛋白質の形成における、硝酸銀水溶液濃度と得られた銀含有複合蛋白質の収率およびその銀含有率の関係を示す図である（調製例10）。

第2図は、本発明の銀含有複合蛋白質の形成における、硝酸銀水溶液濃度と得られた銀含有複合蛋白質の収率およびその銀含有率の関係を示す図である（調製例11）。

第3図は、本発明の銀含有複合蛋白質②のかび抵抗性試験の結果を示す図である（試験例9）。

第4図は、本発明の銀含有複合蛋白質③のかび抵抗性試験の結果を示す図である（試験例9）。

25 第5図は、公知の銀含有抗菌剤（Zeomic）のかび抵抗性試験の

結果を示す図である（試験例 9）。

第 6 図は、本発明の銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量 0. 1 4 g / m<sup>2</sup> で塗布したときのかびの生育状態を示す図である（試験例 1 0）。

5 第 7 図は、本発明の銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量 0. 4 2 g / m<sup>2</sup> で塗布したときのかびの生育状態を示す図である（試験例 1 0）。

第 8 図は、本発明の銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量 0. 1 4 g / m<sup>2</sup> で塗布したときのかびの生育状態を示す図である（試験例 1 0 2）。

第 9 図は、本発明の銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量 0. 4 2 g / m<sup>2</sup> で塗布したときのかびの生育状態を示す図である（試験例 1 2）。

第 1 0 図は、本発明の銀含有複合蛋白質①を塗布したコピー紙の表面 15 を示す図である（試験例 1 3）。

第 1 1 図は、本発明の、銀含有複合蛋白質③を塗布したコピー紙の表面を示す図である（試験例 1 3）。

第 1 2 図は、公知の銀含有抗菌剤（Z e o m i c）を塗布したコピー 紙の表面状態を示す図である（試験例 1 3）。

20

#### 発明の実施の形態

本発明に用いられる蛋白質中の「活性チオール基」とは、銀化合物の水溶液と容易に反応して A g - S 結合金属を形成しうるメルカプト基（- S H）を意味する。

25 本発明において用いられる蛋白質の活性チオール基の含有割合は、蛋

白質重量あたり  $0.1 \sim 200 \mu\text{mol/g}$ 、好ましくは  $5 \sim 100 \mu\text{mol/g}$  である。

5 活性チオール基の含有割合が  $0.1 \mu\text{mol/g}$  未満の場合には、活性チオール基に結合する銀が少なく、理想的な水不溶性銀含有複合蛋白質が得られない場合があるので好ましくない。また、活性チオール基の含有割合が  $200 \mu\text{mol/g}$  を超える場合には、活性チオール基への銀の結合が局在化した水不溶性複合体として析出する場合があるので好ましくない。つまり、このような現象は、結果として、銀結合量の低下を引き起こす。

10 活性チオール基の含有割合は、予め定量した蛋白質の水溶液を調製し、DTNB法（エルマン法）によりL-システイン相当量として測定することができる（生物化学実験法10「SH基の定量法」、学会出版センター発行、1981年、第86～93頁参照）。

15 本発明に用いられる「活性チオール基の含有割合が  $0.1 \sim 200 \mu\text{mol/g}$  の水可溶性の蛋白質」としては、活性チオール基の含有割合が上記の範囲内にある蛋白質であれば特に限定されない。具体的には、ホエー蛋白質、ホエー蛋白質の加水分解物、ホエー蛋白質の水可溶化物、卵殻膜蛋白質の加水分解物および卵殻膜蛋白質の水可溶化物が挙げられ、これらを好適に用いることができる。

20 また、上記の水可溶性の蛋白質は、元の蛋白質の特性の一つである乳化性を保持するので、これを原料として調製した抗菌・抗かび剤は対象物への優れた固着性が期待できる。

本発明において水可溶性の蛋白質における「水可溶性」とは、通常、蛋白質分野で用いられる可溶性蛋白質における「可溶性」に相当する意味と理解されるべきである。

25

また、本発明において水不溶性の銀含有複合蛋白質における「水不溶性」とは、上記の「可溶性」の意味に対応し、水に殆んど溶解しないか、実質的に溶解しないことを意味する。

「ホエー蛋白質」は、チーズ製造時等に副生するホエー（乳性）中に  
5 多く含まれ、元来シスチンおよび活性チオール基を比較的多量に含有する。この蛋白質を後述するアルカリ分解、酵素分解または還元剤処理により、さらに活性チオール基を多く含有するものが得られる。

このホエー蛋白質は、 $\alpha$ -ラクトアルブミンや $\beta$ -ラクトグロブリン  
などの水可溶性蛋白質を含み、チーズ製造時に副生する乳清（ホエー）  
10 中に多く存在し、工業的に大量入手が可能である。

市販のホエー蛋白質としては、例えば、太陽化学株式会社製のサンラクトN-5（商品名）があり、その活性チオール基の含有割合は、50  $\mu$ モル/g程度である。

なお、ホエー蛋白質は、原料から由来する還元糖である乳糖、無機質  
15 などを含むことが多い。特に乳糖の存在により、金属銀が析出する恐れがあるので、銀イオンと接触させる前に予め除去しておくのが好ましい。乳糖の除去は、例えば、ホエー蛋白質を脱イオン水に溶解し、この溶液を脱イオン水に対して透析することにより行うことができる。

分子内にシスチンを多く含有する蛋白質としては、毛髪、羊毛および  
20 羽毛などを構成する硬蛋白質ケラチンが挙げられる。しかしながら、毛髪や羽毛などは、本発明のような工業用材料として用いるには、取り扱いが困難である。また、羊毛はシスチン含量が多いけれども、本発明に用いるにはコストの面で不利である。

羊毛中の蛋白質におけるシスチン含量に匹敵する材料としては卵殻膜  
25 蛋白質があり、この加水分解物または水可溶化物は本発明の蛋白質とし

て好適に用いられる。

「卵殻膜蛋白質」は、鳥類の卵の卵殻の内側の膜を構成する水不溶性の蛋白質であり、本発明に用いられるものとしては、工業用材料としての入手し易さの点から、食品工業などにおいて大量に消費されている鶏

5 卵やウズラの卵などを原材料とするのが好ましい。

この水不溶性の卵殻膜蛋白質は、アルカリ分解、酵素分解処理または還元剤処理などに付すことにより、特定量の活性チオール基を含有する水可溶性の加水分解物や水可溶化物とすることができる。つまり、この処理は、卵殻膜蛋白質中のジスルフィド結合を開裂して、活性チオール

10 基とするもので、その処理条件を選択することにより、蛋白質中の活性チオール基の含有割合を調整することができる。

以下に、卵からの卵殻膜の回収ならびに卵殻膜の加水分解処理および水可溶化処理について具体的に説明する。

#### (卵殻膜の分離)

15 卵は、外側から卵殻、卵殻膜、卵白、卵黄の順に構成され、最外層の卵殻と卵殻膜とが密着している。卵殻膜を回収するには、まず卵殻および卵殻膜と、卵白および卵黄とを通常、割卵により分離する。次いで、卵殻膜を、例えばピンセットを用いて卵殻から剥離する。

工業的に卵殻膜を大量に回収するには、密着した卵殻と卵殻膜とを、

20 酸（例えば、濃度10%程度の塩酸）で処理し、卵殻の主成分である炭酸カルシウムを溶解し、これを濾過して分離する。

酸処理を効率的に行うためには、密着した卵殻と卵殻膜とを予め機械的に粉碎しておくのが好ましい。さらに、この粉碎品を分級し、比重差によって分別して酸処理するのがより好ましい（特開平3-45264

25 号公報参照）。

この公報に記載の方法で分離・回収された卵殻膜は、例えば、卵殻膜をアミノ酸やジペプチドあるいはトリペプチドにまで分解した「卵醬」という調味料、および水可溶化蛋白質として表皮細胞や繊維芽細胞を活性化させる化粧品の成分などに応用されている。

- 5      次いで、上記の方法により得られた卵殻膜を前記のようにアルカリ分解、酵素分解または還元剤処理などに付して、所望割合の活性チオール基を含有する水可溶性の加水分解物または水可溶化物を得る。これらの処理のうちでも、アルカリ分解が工業的に好ましい。

(アルカリ分解)

- 10      卵殻膜を、濃度1～30%程度のアルカリ金属水酸化物（例えば、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウム）の水性溶液（例えば、水またはエタノール濃度40%の水性溶液）中で処理する。アルカリ金属水酸化物の濃度は、卵殻膜の量および処理温度などの条件によって適宜選択すればよい。例えば、卵殻膜の量が50g程度の場合、1規定に調整した
- 15      アルカリ金属水酸化物の水性溶液1000mlで処理される。

アルカリ金属水酸化物の水性溶液を加えた卵殻膜を混合・攪拌することにより、アルカリ分解を促進する。処理温度は40～80℃程度、処理時間は3～24時間程度で充分である。

- 20      処理した水性溶液を濾過し、得られた濾液を脱イオン水に対して透析するなどして、卵殻膜蛋白質の加水分解物を得る。

(酵素分解処理)

卵殻膜を蛋白質分解酵素で処理することにより加水分解物が得られる。

- 蛋白質分解酵素としては、パパインおよびブロメラインなどの植物起源の蛋白質分解酵素や、パンクレアチン、レンニン、トリプシン、キモ
- 25      トリプシンおよびペプシンなどの動物起源の蛋白質分解酵素が挙げられ

る。

この処理は卵殻膜を水に分散させた液中で行い、処理時の温度やpHは、用いる酵素の最適温度およびpHに従えばよく、特に限定されない。

例えば、パンクレアチンを用いる場合には、温度35～50℃、pH6  
5 ～8程度が適当である。

処理した溶液を濾過し、得られた濾液を脱イオン水に対して透析するなどして、卵殻膜蛋白質の加水分解物を得る。

(還元剤処理)

卵殻膜を還元剤で処理しても、水可溶化物が得られる。この方法では、  
10 卵殻膜中のジスルフィド結合を硫化ナトリウム、チオグリコール酸およびβ-チオプロピオン酸またはそのアルカリ塩、あるいは2-メルカプトエタノールなどの還元剤により還元する。還元剤の量は、その種類にもよるが、例えば、β-チオプロピオン酸を用いる場合には、卵殻膜100gに対して、5Nに調整したβ-チオプロピオン酸水溶液2000  
15 ml程度である。

この処理は卵殻膜を水に分散させた液中で行い、例えば、還元剤としてβ-チオプロピオン酸を用いる場合には、温度60～80℃、処理時間5時間程度が適当である。

処理した溶液を濾過し、得られた濾液を脱イオン水に対して透析するなどして、卵殻膜蛋白質の水可溶化物を得る。  
20

また、前記のホエー蛋白質は、水可溶性の蛋白質としてそのまま用いることもできるが、上記のアルカリ分解、酵素分解または還元剤処理などに付して得られる加水分解物または水可溶化物として用いることもできる。

25 本発明の「水不溶性の銀含有複合蛋白質」は、例えば、活性チオール

基の含有割合が0.1～200  $\mu$ mol/gの水可溶性の蛋白質と銀塩とを水中で接触させることにより得ることができる。

銀塩としては、水中で銀イオンを解離し、蛋白質と銀との結合を容易に形成するものであれば特に限定されない。具体的には、硝酸銀、亜硝酸銀、硫酸銀、酸化銀および塩化銀などの無機酸塩、酢酸銀、乳酸銀、

- 5 蔞酸銀などの有機酸塩、ジアミン銀硝酸塩およびジアミン銀硫酸塩などの錯塩などが挙げられ、硝酸銀、酢酸銀が水に対する溶解性の点で特に好ましい。

- 10 蛋白質と銀塩とを水中で接触させる方法としては、混合・攪拌および振盪などの公知の方法を用いることができる。中でも、混合・攪拌が工業的に好ましい。

攪拌を用いた具体的な方法としては、

- ①蛋白質と銀塩とを水中で一度に混合して攪拌する方法、  
②水中で蛋白質を攪拌しつつ、この中に水に溶解した銀塩を徐々に加えて、水中の銀イオン濃度を徐々に上げる方法、  
15 ③水中で蛋白質を攪拌しつつ、この中に細かく粉碎した銀塩を徐々に加えて溶解させ、水中の銀イオン濃度を徐々に上げる方法、  
④銀塩水溶液を攪拌しつつ、この中に蛋白質水溶液を徐々に加えて最終的に水中の銀イオン濃度を一定に保つ方法、  
20 などが挙げられる。中でも②の方法は、銀含有複合蛋白質が再現性よく、高収率で得られるので特に好ましい。

- 蛋白質と銀塩の割合は、接触させる条件にもよるが、通常、蛋白質1gに対して、銀塩0.2～3g程度が好ましい。より具体的には、濃度1～20mg/mlの蛋白質水溶液1000mlに対して、濃度5～25 50mM程度の銀塩水溶液1000ml程度の割合で用いるのが好まし

い。ただし、銀含有率の高い複合蛋白質が効率よく得られるのであれば、蛋白質水溶液と銀塩水溶液の液量比は特に限定されない。

また、蛋白質と銀塩とを接触させる際の条件は、蛋白質と銀塩とが均一に混合され、銀含有率の高い複合蛋白質が効率よく得られる条件であればよい。例えば、攪拌による接触の場合には、温度は0～70℃程度、  
5 処理時間は24時間以内が適当である。

処理した混合溶液を濾過し、濾取した残渣を脱イオン水およびエタノールなどで洗浄し、乾燥して銀含有複合蛋白質を得る。

得られた複合蛋白質中の銀含有率は、例えば、3%硝酸を用いた溶出  
10 銀の定量により求めることができる。

本発明によれば、上記の銀含有複合蛋白質を有効成分として含有する抗菌・抗かび剤、および該抗菌・抗かび剤で紙と処理された抗菌・抗かび紙が提供される。

本発明の抗菌・抗かび剤は、公知の方法によって、医療用機械器具、  
15 文具類、繊維製品、紙製品、日用雑貨品や浴用製品などに含有させることにより、抗菌・抗かび性を発現させることができるが、これらの対象品の中でも特に紙製品に対して優れた抗菌・抗かび性を発現させることができる。

本発明において、「紙」とは、植物から得られるセルロース性繊維を水中に分散し湿式抄紙して得られるシート状材料だけでなく、紙と類似の繊維絡合状の構造と物性をもつ、合成紙のようなシート状材料をも意味する。具体的には、新聞紙や板紙などの古紙、印刷紙、コピー紙およびライナー紙などが挙げられる。  
20

本発明の抗菌・抗かび剤で紙を処理する方法としては、適量の水または  
25 は水性媒体に分散させた銀含有複合蛋白質を紙表面へ塗布、または浸漬

およびスプレー（シャワー）などにより紙に含浸させる方法、ならびに銀含有複合蛋白質をパルプスラリーとともに抄紙する方法などが挙げられる。塗布による方法であれば、既存の抄紙工程の装置を転用できるので特に好ましい。

- 5      本発明の抗菌・抗かび剤を紙に塗布する場合、好ましい塗布量は紙の種類やその用途などにより異なるが、通常、 $1\text{ m}^2$  あたり  $0.01\sim 10\text{ g}$ 、より好ましくは  $0.1\sim 5\text{ g}$  である。塗布量が  $1\text{ m}^2$  あたり  $0.01\text{ g}$  未満の場合には、十分な抗菌・抗かび効果が得られないので好ましくない。また、塗布量が  $1\text{ m}^2$  あたり  $10\text{ g}$  を超える場合には、それ
- 10    以上の抗菌・抗かび効果が期待できず、コスト高になるので好ましくない。

#### 実施例

- この発明を調製例および試験例により以下に説明するが、これらの調
- 15    製例および試験例によりこの発明が限定されるものではない。

#### 調製例 1 [アルカリ分解による卵殻膜蛋白質の加水分解物の調製]

- 容量  $500\text{ ml}$  の丸底フラスコに含水重量  $74.36\text{ g}$ （乾燥重量  $10.81\text{ g}$ ）の卵殻膜、 $2\text{ N-NaOH}$  水溶液  $130\text{ ml}$  およびエタノール  $86\text{ ml}$  を入れて、 $70^\circ\text{C}$  で  $64$  時間、攪拌した。次いで、混合溶液を濾過し、得られた濾液を脱イオン水に対して透析し、卵殻膜蛋白質の加水分解物の水溶液（以下、「可溶化蛋白質 A」と称す） $188\text{ ml}$  を得た。
- 20    可溶化蛋白質 A 中の蛋白質濃度をローリー（Lowry）法により測定し、前述の「SH 基の定量法」に基づいて、蛋白質濃度から可溶化蛋

- 25    定し、前述の「SH 基の定量法」に基づいて、蛋白質濃度から可溶化蛋

白質A中の活性チオール基の含有割合を算出した。

得られた結果を以下に示す。また、参考値として、ビウレット (B u r e t t e) 法により測定した蛋白質濃度および吸光度 (280nm) を併記する。ただし、括弧内の数値は全量換算値 (吸光度については、

5 トータルアブソーバンス) を示す。

液量	188ml
活性チオール基の含有割合	17 $\mu$ モル/l (3.2 $\mu$ モル)
蛋白濃度 ローリー法	3.4mg/ml (639.2mg)
ビウレット法	3.8mg/ml (714.4mg)
10 吸光度	6.2 (1165.6)

以上の数値から求められる可溶化蛋白質A中の活性チオール基の含有割合は、4.5~5.0  $\mu$ モル/gである。

調製例2 [アルカリ分解による卵殻膜蛋白質の加水分解物の調製]

15 容量500mlの丸底フラスコに含水重量79g (乾燥重量11.46g)の卵殻膜、2N-NaOH水溶液137mlおよびエタノール92mlを入れて、70℃で96時間、攪拌した。次いで、混合溶液を濾過し、得られた濾液を脱イオン水に対して透析し、卵殻膜蛋白質の加水分解物の水溶液 (以下、「可溶化蛋白質B」と称す) 640mlを得た。

20 調製例1と同様にして、可溶化蛋白質B中の蛋白質濃度を測定し、その濃度から活性チオール基の含有割合を算出した。得られた結果を以下に示す。

液量	640ml
活性チオール基の含有割合	55 $\mu$ モル/l (35.2 $\mu$ モル)
25 蛋白濃度 ローリー法	8.0mg/ml (5120mg)

ビウレット法 7. 2 mg / ml (4608 mg)

吸光度 15. 99 (10231)

以上の数値から求められる可溶化蛋白質B中の活性チオール基の含有割合は、6. 9～7. 6  $\mu$ モル/gである。

5

調製例3〔可溶化蛋白質Aを用いた銀含有複合蛋白質の調製〕

容量100 mlのビーカーに、可溶化蛋白質A 20 mlを入れ、攪拌しながら10 mMの硝酸銀水溶液20 mlを約20分かけて滴下し、滴下後、この混合溶液を1時間、攪拌した。得られた混合溶液を一晩、静置し、濾過した。

濾別した残渣を脱イオン水20 mlで2回洗浄し、続いて少量のエタノールで洗浄し、これを乾燥して銀含有複合蛋白質①59. 2 mgを得た。

銀含有複合蛋白質①中の銀含有率を、3%硝酸を用いた溶出銀の定量により求めたところ、4. 75重量%であった。

また、濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀含有複合蛋白質①中の銀含有率を求めたところ、8. 8重量%であった。このことから銀含有複合蛋白質①は、従来の蛋白質系の抗菌剤と比較して、濾別後の洗浄によって銀がほとんど遊離しなかったことがわかる(比較調製例1、2参照)。

調製例4〔可溶化蛋白質Bを用いた銀含有複合蛋白質の調製〕

可溶化蛋白質Aに代えて、可溶化蛋白質Bを用いること以外は調製例3と同様にして、銀含有複合蛋白質②118. 5 mgを得た。

銀含有複合蛋白質②中の銀含有率は、7. 0重量%であった。

また、濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀含有複合蛋白質②中の銀含有率を求めたところ、10.8重量%であった。このことから調製例3と同様に、銀含有複合蛋白質②は、濾別後の洗浄によって銀がほとんど遊離しなかったことがわかる。

5

調製例5 [ホエー蛋白質を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

容量300mlのビーカー中で、ホエー蛋白質(太陽化学株式会社製、商品名：サンラクトN-5、蛋白質含有率72%、活性チオール基の含有割合47  $\mu$ モル/g) 2gを脱イオン水200mlに溶解した。この混合溶液に50mMの硝酸銀水溶液200mlを添加し、1時間、攪拌した。得られた混合溶液を一晩静置し、濾過した(濾紙No. 2を使用)。

濾別した残渣を脱イオン水100mlで2回洗浄し、これを乾燥して銀含有複合蛋白質③1646mgを得た(用いた蛋白質に対する収率115%)。

15 銀含有複合蛋白質③中の銀含有率を、3%硝酸を用いた溶出銀の定量により求めたところ、4.25重量%であった。

また、濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀含有複合蛋白質③中の銀含有率を求めたところ、4.86重量%であった。

このことから調製例3と同様に、銀含有複合蛋白質③は、濾別後の洗浄  
20 によって銀がほとんど遊離しなかったことがわかる。

調製例6 [ホエー蛋白質を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

容量300mlのビーカー中で、ホエー蛋白質(太陽化学株式会社製、商品名：サンラクトN-5、蛋白質含有率72%、活性チオール基の含有割合47  $\mu$ モル/g) 2gを脱イオン水180mlに溶解した。次い  
25

で、この混合溶液を脱イオン水に対して透析し、乳糖を除去した。

回収した透析内液 20 ml に 10 mM の硝酸銀水溶液 20 ml を添加し、1 時間、攪拌した。得られた混合溶液を一晩静置し、濾過した（濾紙 No. 2 を使用）。

- 5 濾別した残渣を脱イオン水 50 ml で 2 回洗浄し、これを乾燥して銀含有複合蛋白質④ 1.54.8 mg を得た。

銀含有複合蛋白質④中の銀含有率を、3%硝酸を用いた溶出銀の定量により求めたところ、7.80 重量%であった。

- 10 調製例 7 [ホエー蛋白質を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

容量 5 L のビーカー中で、ホエー蛋白質（ニュージーランドミルクプロダクト製、商品名：アラセン 895、蛋白質含有率 86.5%、活性チオール基の含有割合 34.5  $\mu$ mol/g）30 g を脱イオン水 3 L に溶解した。

- 15 別のビーカー中で硝酸銀 4.575 g を脱イオン水約 300 ml に溶解した水溶液をホエー蛋白質の水溶液に添加し、1 時間混合攪拌した。得られた混合溶液を一晩静置し、噴霧乾燥した。

噴霧乾燥に際し、L-8 型スプレードライヤー（大川原化工機株式会社製）により、熱風入口温度 180℃、排風出口温度 95℃の条件下、流

- 20 速 2 L/毎時でスプレードライし、銀含有複合蛋白質⑤を得た。

得られた銀含有複合蛋白質⑤を有機物分解した後、日本薬局方記載のチオシアン酸アンモニウム滴定法により銀含有率を定量したところ、9.30 重量%であった。

- 25 調製例 8 [ホエー蛋白質を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

容量5 Lのビーカー中で、ホエー蛋白質（ニュージーランドミルクプロダクト製、商品名：アラセン895、蛋白質含有率86.5%、活性チオール基の含有割合34.5  $\mu$ モル/g）25 gを脱イオン水2.5 Lに溶解した。

- 5 別のビーカー中で硝酸銀21.24 gを脱イオン水2.5 Lに溶解した水溶液をホエー蛋白質の水溶液に添加し、1時間混合攪拌した。得られた混合溶液を一晩静置した後、調製例3と同様に噴霧乾燥し、銀含有複合蛋白質⑥を得た。

- 得られた銀含有複合蛋白質⑥を有機物分解した後、日本薬局方記載の  
10 チオシアン酸アンモニウム滴定法により銀含有率を定量したところ、31.15重量%であった。

#### 調製例9 [卵殻膜を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

- 生卵から分離した生の卵殻膜（活性チオール基の含有割合5  $\mu$ モル/g）を湿重量で約40 g取り、50 mM硝酸銀水溶液800 ml中に浸漬し、ミキサーにて分散した後、一晩放置した。その後、濾過により卵  
15 殻膜を集め脱イオン水800 mlにて3回繰り返し濾過・洗浄した。洗浄後の卵殻膜を脱イオン水400 mlに分散し、回転ボールミルにより湿式粉碎した。粉碎は、スラリー中の粒子の平均径が20～30マイクロ  
20 ンより小さくなるまで継続して行った。その後、スラリー液を回収し、粉碎物を濾過・洗浄後、減圧加熱乾燥し、銀含有複合蛋白質⑦を得た。

得られた銀含有複合蛋白質⑦を有機物分解した後、日本薬局方記載のチオシアン酸アンモニウム滴定法により銀含有率を定量したところ、6.36重量%であった。

比較調製例 1 [卵殻膜機械粉碎品を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

- 容量 50 ml のビーカー中で、卵殻膜機械粉碎品①（太陽化学社製、商品名：サンカクマク P、活性チオール基の含有割合は測定不可） 2 g に 0.2% 硝酸銀水溶液 10 ml を加えて懸濁した。この懸濁液を室温で 10 分間攪拌し、濾過した（濾紙 No. 2 を使用）。

濾別した残渣を脱イオン水 50 ml で 3 回洗浄し、これを乾燥して銀吸着卵殻膜粉末① 1904 mg を得た。

銀吸着卵殻膜粉末①中の銀含有率を、3% 硝酸を用いた溶出銀の定量により求めたところ、0.059 重量% であった。

- また、濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀吸着卵殻膜粉末①中の銀含有率を求めたところ、0.68 重量% であった。このことから銀吸着卵殻膜粉末①は、濾別後の洗浄によって銀が遊離したことがわかる。

- 15 比較調製例 2 [卵殻膜機械粉碎品を用いた銀含有複合蛋白質の調製]

卵殻膜機械粉碎品に代えて、石臼式磨砕および気流式粉碎・分級により得られた卵殻膜機械粉碎品②を用いること以外は比較調製例 1 と同様にして、銀吸着卵殻膜粉末② 1928 mg（活性チオール基の含有割合は測定不可）を得た。

- 20 銀吸着卵殻膜粉末②中の銀含有率は、0.026 量% であった。

また、濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀吸着卵殻膜粉末②中の銀含有率を求めたところ、0.67 重量% であった。このことから銀吸着卵殻膜粉末②は、濾別後の洗浄によって銀が遊離したことがわかる。

試験例 1 [銀含有複合蛋白質の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力試験]

銀含有複合蛋白質①および銀含有複合蛋白質③の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力試験を次の条件で行った。また、公知の銀含有抗菌剤についての比較試験も併せて行った。

5 公知の銀含有抗菌剤としては次のものを用いた。

Z e o m i c [商品名(登録商標)、株式会社シナネンゼオミック製、  
銀含有率約 2.5 重量%]

N o v a r o n [商品名(登録商標)、東亜合成株式会社製]

得られた結果を第 1 表に示す。なお、表中の数値は生菌数であり、2  
10 検体の平均値として示す。したがって、無添加の欄には生菌数のデータ  
が 2 つ示される。以下の試験においても同様に生菌数は 2 検体の平均値  
として表すものとする。

測定方法 銀等無機抗菌剤の抗菌評価試験法 II

(1995 年度版、銀等無機抗菌剤研究会編)

15 最小殺菌濃度 (MBC) の測定に準拠

供試菌 スタヒロコッカス・アウレウス

(Staphylococcus aureus) IF0 12732

使用培地 SCD 培地

SCD 寒天培地

20 銀含有複合蛋白質①および銀含有複合蛋白質③の黄色ブドウ球菌に対する最小殺菌濃度 (MBC 値) は、それぞれ、3.13 ppm 未満および 6.25 ppm であった。

第 1 表

薬剤添加濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質①	銀含有複合 蛋白質③	Zeomic	Novaron	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	8.19x10 <sup>5</sup> 6.90x10 <sup>5</sup>	左同	左同	左同	左同	左同
3200	0	0	0	∞	6.25	0
1600	0	0	0	∞	3.13	0
800	0	0	0	∞	1.56	0
400	0	0	0	∞	0.78	1
200	0	0	0	∞	0.39	∞
100	0	0	0	∞	0.2	∞
50	0	0	0	∞	0.1	∞
25	0	0	0	∞	0.05	∞
12.5	0	0	296	∞	0.025	∞
6.25	0	132	32	∞	0.013	∞

\* 試験菌 *Staphylococcus aureus*

\* 生菌数が5個以下で生育を認めないと判定。

\* 薬剤の終濃度は、菌数と等量混合であることから添加薬剤濃度の2分の1

#### 試験例 2〔銀含有複合蛋白質の大腸菌に対する抗菌力試験〕

銀含有複合蛋白質①、銀含有複合蛋白質②、銀含有複合蛋白質③の大腸菌に対する抗菌力試験を次の条件で行った。また、試験例 1 と同様、公知の銀含有抗菌剤についての比較試験も併せて行った。なお、薬剤添加は、3.13～800.00 ppm の範囲の濃度で行った。

得られた結果を第 2 表に示す。なお、表中の数値は生菌数を示す。

測定方法 銀等無機抗菌剤の抗菌評価試験法 II

(1995 年度版、銀等無機抗菌剤研究会編)

最小殺菌濃度 (MBC) の測定に準拠

供試菌 エシェリキア・コリ

(Escherichia coli)IFO 3972

使用培地 普通ブイヨン培地 (NB培地)

普通ブイヨン寒天培地 (NA培地)

銀含有複合蛋白質①～③の大腸菌に対する最小殺菌濃度 (MBC値)

5 は、それぞれ1.65 ppm未満、1.65 ppm、6.25 ppmであった。

それに対してZeomicでは6.25 ppm、Novaronでは50 ppmであった。

第2表

10

薬剤添加 濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質①	銀含有複合 蛋白質②	銀含有複合 蛋白質③	Zeomic	Novaron	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	1.72×10 <sup>7</sup> 1.70×10 <sup>7</sup>	左同	左同	左同	左同	左同	左同
800.00	0	0	0	0	0	6.25	0
400.00	0	0	0	0	0	3.13	0
200.00	0	0	0	0	0	1.56	0
100.00	0	0	0	0	0	0.78	0
50.00	0	0	0	0	13	0.39	0
25.00	0	0	0	0	16	0.2	0
12.50	0	0	0	0	∞	0.1	∞
6.25	0	0	51	44	∞	0.05	∞
3.13	0	2	203	∞	∞		

20

\* 薬剤最終作用濃度は表示の2分の1

\* 生菌数5個以下を菌の生育を認めないと判定する。

試験例3 [銀含有複合蛋白質の大腸菌に対する抗菌力試験]

銀含有複合蛋白質⑤、銀含有複合蛋白質⑥、銀含有複合蛋白質⑦の大腸菌に対する抗菌力試験を試験例2と同様の条件で行った。なお、薬剤

25 添加は、0.049～25.000 ppmの範囲の濃度で行った。

得られた結果を第3表に示す。なお、表中の数値は生菌数を示す。

銀含有複合蛋白質⑤～⑦の大腸菌に対する最小殺菌濃度（MBC値）は、それぞれ0.39 ppm, 0.098 ppm, 0.78 ppmであった。

5

第3表

薬剤添加濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質⑤	銀含有複合 蛋白質⑥	銀含有複合 蛋白質⑦	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	1.30×10 <sup>7</sup> 1.70×10 <sup>7</sup>	左同	左同	左同	左同
25.000	0	0	0	0.780	0
12.500	0	0	0	0.390	0
6.250	0	0	0	0.200	0
3.130	0	0	0	0.100	0
1.560	0	0	0	0.050	0
0.781	0	0	23	0.025	17
0.391	42	0	781	0.013	1611
0.196	132	0	∞		
0.098	1354	17	∞		
0.049	∞	73	∞		

\* 薬剤最終作用濃度は表示の2分の1

\* 生菌数5個以下を菌の生育を認めないと判定する。

10

15

試験例4〔銀含有複合蛋白質の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力試験〕

卵殻膜機械粉碎品①および銀吸着卵殻膜粉末①、ならびに卵殻膜機械

20 粉碎品②および銀吸着卵殻膜粉末②の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力試験を次の条件で行った。

測定方法 銀等無機抗菌剤の抗菌評価試験法 II

(1995年度版、銀等無機抗菌剤研究会編)

最小殺菌濃度（MBC）の測定に準拠

25

供試菌

スタヒロコッカス・アウレウス IF0 12732

使用培地 SCD培地

SCD寒天培地

抗菌力試験は、各薬剤の添加濃度を1.56～400ppmの範囲で変化させて行ったが、卵殻膜機械粉碎品①、銀吸着卵殻膜粉末①、卵殻膜機械粉碎品②および銀吸着卵殻膜粉末②のいずれにおいてもブドウ球菌に対する抗菌力は認められなかった。

調製例10〔銀含有複合蛋白質形成に及ぼす硝酸銀濃度の影響〕

硝酸銀水溶液の濃度を0.1mM、0.5mM、2mM、5mM、10mMおよび50mMと変化させること以外は調製例3と同様にして、銀含有複合蛋白質を得た。

銀含有複合蛋白質を濾別した濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀含有複合蛋白質中の銀含有率を求めた。

また、可溶化蛋白質A（ローリー法による蛋白質濃度3.4mg/ml、20ml）の蛋白質量68mgと銀含有複合蛋白質の収量から収率を求めた。

得られた結果を第1図に示す。

調製例11〔銀含有複合蛋白質形成に及ぼす硝酸銀濃度の影響〕

硝酸銀水溶液の濃度を0.1mM、0.5mM、2mM、5mM、10mMおよび50mMと変化させること以外は調製例4と同様にして、銀含有複合蛋白質を得た。

銀含有複合蛋白質を濾別した濾液中の銀イオン濃度を定量し、この数値から逆算して、銀含有複合蛋白質中の銀含有率を求めた。

また、可溶化蛋白質B（ローリー法による蛋白質濃度8.0mg/ml

1、20ml)の蛋白質量160mgと銀含有複合蛋白質の収量から収率を求めた。

得られた結果を第2図に示す。

第1図および第2図から、銀含有率の高い銀含有複合蛋白質が高収率  
5 で得られることがわかる。

試験例5〔銀含有複合蛋白質と公知の銀含有抗菌剤との抗菌力の比較試験〕

銀含有複合蛋白質②（銀含有率7.0重量%）および公知の銀含有抗  
10 菌剤の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力の比較試験を、試験例1と同様の条件で行った。

公知の銀含有抗菌剤としては、前述のZeomicおよびNovaronを用い、参考のため硝酸銀についても同様に試験した。

得られた結果を第4表に示す。なお、表中の数値は生菌数を示す。

15

第4表

薬剤添加濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質②	Zeomic	Novaron	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	$2.65 \times 10^6$ $3.76 \times 10^6$	左同	左同	左同	左同
3200	0	0	$\infty$	6.25	0
1600	0	0	$\infty$	3.13	0
800	0	0	$\infty$	1.56	0
400	0	3	$\infty$	0.78	1
200	0	1	$\infty$	0.39	$\infty$
100	0	5	$\infty$	0.2	$\infty$
50	0	16	$\infty$	0.1	$\infty$
25	0	$\infty$	$\infty$	0.05	$\infty$
12.5	0	$\infty$	$\infty$	0.025	$\infty$
6.25	0	$\infty$	$\infty$	0.013	$\infty$

\* 試験菌 *Staphylococcus aureus*

\* 生菌数が5個以下で生育を認めないと判定。

\* 薬剤の終濃度は、菌数と等量混合であることから添加薬剤濃度の2分の1

試験例6 [銀含有複合蛋白質と公知の銀含有抗菌剤との抗菌力の比較試験]

銀含有複合蛋白質③（銀含有率4.25重量%）および公知の銀含有抗菌剤の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力の比較試験を、試験例1と同様の条件で行った。

公知の銀含有抗菌剤としては、前述のZeomicおよびNovaronを用い、参考のため硝酸銀についても同様に試験した。

得られた結果を第5表に示す。なお、表中の数値は生菌数を示す。

第5表

薬剤添加濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質③	Zeomic	Novaron	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	2.65x10 <sup>6</sup> 3.76x10 <sup>6</sup>	左同	左同	左同	左同
3200	0	0	∞	6.25	0
1600	0	0	∞	3.13	0
800	0	0	∞	1.56	0
400	0	3	∞	0.78	1
200	0	1	∞	0.39	∞
100	0	5	∞	0.2	∞
50	0	16	∞	0.1	∞
25	1	∞	∞	0.05	∞
12.5	20	∞	∞	0.025	∞
6.25	∞	∞	∞	0.013	∞

\* 試験菌 *Staphylococcus aureus*

\* 生菌数が5個以下で生育を認めないと判定。

\* 薬剤の終濃度は、菌数と等量混合であることから添加薬剤濃度の2分の1

試験例7〔銀含有複合蛋白質と公知の銀含有抗菌剤との抗菌力の比較試験〕

銀含有複合蛋白質②（銀含有率7.0重量%）および公知の銀含有抗菌剤の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力の比較試験を、試験例1と同様の条件で行った。

公知の銀含有抗菌剤としては次のものを用い、参考のため硝酸銀についても同様に試験した。

バイカムAK-L S（大塚化学製、銀含有率15重量%）

得られた結果を第6表に示す。なお、表中の数値は生菌数を示す。

第 6 表

5

薬剤添加濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質②	バイカムAK-LS (大塚化学)	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	3.50x10 <sup>6</sup>	左同	左同	左同
200.00	0	∞	12.50	0
100.00	0	∞	6.25	1
50.00	0	∞	3.13	1
25.00	0	∞	1.56	1
12.50	0	∞	0.78	133
6.25	4	∞	0.39	∞
3.13	14695	∞	0.20	∞
1.56	∞	∞	0.10	∞
0.78	∞	∞		

10

- \* 試験菌 *Staphylococcus aureus*
- \* 生菌数が5個以下で生育を認めないと判定。
- \* 薬剤の終濃度は、菌数と等量混合であることから添加薬剤濃度の2分の1

15 試験例 8 [銀含有複合蛋白質と局方プロテイン銀との抗菌力の比較試験]

銀含有複合蛋白質②（銀含有率7.0重量%）および局方プロテイン銀の黄色ブドウ球菌に対する抗菌力の比較試験を、試験例1と同様の条件で行った。

20 測定方法 銀等無機抗菌剤の抗菌評価試験法 II  
(1995年度版、銀等無機抗菌剤研究会編)

最小殺菌濃度 (MBC) の測定に準拠

供試菌 スタヒロコッカス・アウレウス IF0 12732

使用培地 SCD培地

25 局方プロテイン銀としては次のものを用い、参考のため硝酸銀につい

ても同様に試験した。

局方プロテイン銀（丸石製薬製、銀含有率8重量%）

得られた結果を第7表に示す。なお、表中の数値は生菌数を示す。

第7表

薬剤添加濃度 (ppm)	銀含有複合 蛋白質②	局方プロテイン銀 (丸石製薬)	硝酸銀中Ag 添加濃度 (ppm)	硝酸銀
無添加	$3.50 \times 10^6$	左同	左同	左同
200.00	0	0	12.50	0
100.00	0	0	6.25	1
50.00	0	0	3.13	1
25.00	0	0	1.56	1
12.50	0	128	0.78	133
6.25	4	170	0.39	$\infty$
3.13	14695	$\infty$	0.20	$\infty$
1.56	$\infty$	$\infty$	0.10	$\infty$
0.78	$\infty$	$\infty$		

\* 試験菌 *Staphylococcus aureus*

\* 生菌数が5個以下で生育を認めないと判定。

\* 薬剤の終濃度は、菌数と等量混合であることから添加薬剤濃度の2分の1

第1～6表の結果から、本発明の銀含有複合蛋白質の抗菌・抗かび活性が、公知の無機系銀含有抗菌剤よりも優れていることがわかる。特に第6表に示す試験例7で用いた公知の銀含有抗菌剤のバイカムAK-L Sは、銀含有率が15重量%であるにも拘らず、抗菌・抗かび活性が劣っている。これは、抗菌活性を発揮すべきときに、適当量の銀イオンの徐放性がないためと考えられる。第7表の結果から明らかなように、本発明の銀含有複合蛋白質の抗菌・抗かび活性が局方プロテインよりも優れていることがわかる。

試験例 9 [銀含有複合蛋白質と公知の銀含有抗菌剤とのかび抵抗性の比較試験]

銀含有複合蛋白質①、銀含有複合蛋白質②、銀含有複合蛋白質③および公知の銀含有抗菌剤 [Zeomic (商品名、株式会社シナネンゼオミックス製)] のかび抵抗性の比較試験を次の条件で行った。

測定方法 JIS K2911-1981 かび抵抗性試験方法に準拠

特に、下記の項目を参照

3. 試験の準備 3. 5 孢子懸濁液

4. 試験の通則 4. 3. 2 試験結果の表示

10

表 1「試験結果の表示方法」

6. 繊維製品の試験 6. 2. 2 湿式法

かび 第 1 群 アスペルギルス ニゲル (FERM S-1)

第 2 群 ペニシリウム シトリナム (FERM S-5)

第 3 群 リゾープス ストロニフェル (FERM S-7)

15

第 4 群 クラドスポリウム クラドスポリオイデス  
(FERM S-8)

第 5 群 ケトミウス グロボスム (FERM S-11)

被塗布紙としては市販のコピー用紙を使用した。塗布は、ベーカー式  
アプリーケーター (安田精機製作所製) を用い、膜厚  $1 \sim 10 \mu\text{m}$  の条件  
で行った。各薬剤は以下のような濃度のものを調製した。両面に塗布後、  
60℃で1時間、送風乾燥することにより、目的の塗布重量を有する試験片  
(5 cm × 5 cm) を作成した。

銀含有複合蛋白質①の薬剤は、銀含有複合蛋白質① 256 mg を脱イ  
オン水 20 ml に分散して調製した。この薬剤を用いて、 $1 \text{ g/m}^2$ 、  
25  $2 \text{ g/m}^2$  および  $4 \text{ g/m}^2$  の塗布試験片を作成した。

銀含有複合蛋白質②の薬剤は、銀含有複合蛋白質②の256mgと1280mgをそれぞれ脱イオン水20mlに分散して調製した。この薬剤を用いて、 $1\text{ g/m}^2$ 、 $2\text{ g/m}^2$ および $4\text{ g/m}^2$ の塗布試験片を作成した。

- 5 銀含有複合蛋白質③の薬剤は、銀含有複合蛋白質③256mgを脱イオン水20mlに分散して調製した。この薬剤を用いて、 $1\text{ g/m}^2$ 、 $2\text{ g/m}^2$ および $4\text{ g/m}^2$ の塗布試験片を作成した。

- Zeomicを脱イオン水に分散して1%および10%の薬剤を調製した。この薬剤を用いて、 $1\text{ g/m}^2$ 、 $2\text{ g/m}^2$ および $4\text{ g/m}^2$ の塗布試験片を作成した。
- 10

抗菌・抗かび剤の塗布量（両面塗布）を変化させた塗布試験片のかびの生育状態を観察した。なお、各試験毎に未塗布のものを同様に試験して対照とした。

得られた結果を第3～5図に示す。

- 15 第3図（a）、（b）および（c）は、それぞれ銀含有複合蛋白質②の塗布量を $1\text{ g/m}^2$ 、 $2\text{ g/m}^2$ および $4\text{ g/m}^2$ に変化させたときのかびの生育状態である。

- 第4図（a）、（b）および（c）は、それぞれ銀含有複合蛋白質③の塗布量を $1\text{ g/m}^2$ 、 $2\text{ g/m}^2$ および $4\text{ g/m}^2$ に変化させたときのかびの生育状態である。
- 20

第5図（a）、（b）および（c）は、それぞれZeomicの塗布量を $1\text{ g/m}^2$ 、 $2\text{ g/m}^2$ および $4\text{ g/m}^2$ に変化させたときのかびの生育状態である。

また、かび抵抗性試験の結果を第8表に示す。

第8表

塗布量 判定値	銀含有複合蛋白質②			銀含有複合蛋白質③			Zeomic			対照
	1g/m <sup>2</sup>	2g/m <sup>2</sup>	5g/m <sup>2</sup>	1g/m <sup>2</sup>	2g/m <sup>2</sup>	4g/m <sup>2</sup>	1g/m <sup>2</sup>	2g/m <sup>2</sup>	10g/m <sup>2</sup>	
	3	3	3	3	3	3	1	1	3	1

(判定値)

- 1 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の1/3を超える。  
 2 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の1/3を超えない。  
 3 : 菌糸の発育が認められない。

第8表の結果から、同程度の塗布量において、銀含有複合蛋白質②および③は、公知の銀含有抗菌剤と比べるとはるかに優れたかび抵抗性を示すことがわかった。

なお、銀含有複合蛋白質②および③は、塗布量を増加させると銀に由来する変色が観察されるが、かび抵抗性の効果に関しては、変色しない

だけの少量の塗布量で十分であり、全く問題はない。

#### 試験例 10 [銀含有複合蛋白質のかび抵抗性試験]

銀含有複合蛋白質③を塗布した紙片におけるかび抵抗性試験を J I S

5 . K 2 9 1 1 -1981 かび抵抗性試験方法に準拠して行った。

(使用かび) ネオサトリア

被塗布紙としてはライナー紙を使用した。塗布は、ベーカー式アプリケーションター (安田精機製作所製) を用い、膜厚  $1 \mu\text{m}$  または  $3 \mu\text{m}$  の条件で行った。各薬剤を両面に塗布後、 $60^\circ\text{C}$  で 1 時間、送風乾燥すること  
10 により、 $0.14 \text{ g/m}^2$  および  $0.42 \text{ g/m}^2$  の塗布重量を有する試験片 ( $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ ) を作成した。

得られた結果を第 6 図および第 7 図に示す。

第 6 図は、銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量  $0.14 \text{ g/m}^2$  で塗布したときのかびの生育状態である。

15 第 7 図は、銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量  $0.42 \text{ g/m}^2$  で塗布したときのかびの生育状態である。

また、かび抵抗性試験の結果を第 9 表に示す。

第9表

塗布量	銀含有複合蛋白質③ 0.14 g/m <sup>2</sup>			銀含有複合蛋白質③ 0.42 g/m <sup>2</sup>			対照 未塗布
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3	
試験片 判定値	3	3	3	3	3	3	No.1 1

(判定値)

- 1 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の1/3を超える。  
 2 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の1/3を超えない。  
 3 : 菌糸の発育が認められない。

第6図、第7図および第9表の結果から、銀含有複合蛋白質③は、塗布量0.14 g/m<sup>2</sup>および0.42 g/m<sup>2</sup>で両面塗布したライナー紙においても良好なカビ抵抗性を付与し得ることがわかった。

試験例11 [銀含有複合蛋白質のかび抵抗性試験]

銀含有複合蛋白質⑤～⑦を塗布した紙片におけるかび抵抗性試験を J I S K 2 9 1 1-1981 かび抵抗性試験方法に準拠して行った。

被塗布紙としてはライナー紙を使用した。塗布は、ベーカー式アプリケーションター（安田精機製作所製）を用い、膜厚  $1\ \mu\text{m}$  および  $3\ \mu\text{m}$  の条件  
5 で行った。各薬剤を両面に塗布後、 $60^\circ\text{C}$  で 1 時間、送風乾燥することにより、目的の塗布重量を有する試験片 ( $5\ \text{cm} \times 5\ \text{cm}$ ) を作成した。

（使用かび） ネオサトリアの孢子懸濁液

塗布試験片への抗菌・抗かび剤の塗布量（両面塗布）を変化させて、  
かびの生育状態を観察した。なお、各試験毎に未塗布のものを同様に試  
10 験して対照とした。

得られた結果を第 10 表に示す。

第10表

	銀含有複合蛋白質⑤			銀含有複合蛋白質⑥			銀含有複合蛋白質⑦		
	0.15 g/m <sup>2</sup>	0.45 g/m <sup>2</sup>	0.90 g/m <sup>2</sup>	0.15 g/m <sup>2</sup>	0.45 g/m <sup>2</sup>	0.90 g/m <sup>2</sup>	0.15 g/m <sup>2</sup>	0.45 g/m <sup>2</sup>	0.90 g/m <sup>2</sup>
塗布量									未塗布
1回目 判定値	2	2	3	2	3	3	1	2	2
2回目 判定値	2	3	3	3	3	3	2	2	3
3回目 判定値	2	3	3	3	3	3	2	2	3

(判定値)

- 1 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の1/3を超える。  
 2 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の1/3を超えない。  
 3 : 菌糸の発育が認められない。

第10表の結果から、未塗布試験片が判定値1であるのに対して、銀含有複合蛋白質⑤～⑦の塗布試験片については判定値が2以上で、良好なかび抵抗性を有することがわかった。特に、塗布量0.45 g/m<sup>2</sup>以上で顕著な効果を示した。

試験例 1 2 [銀含有複合蛋白質のかび抵抗性試験]

銀含有複合蛋白質③を塗布した紙片におけるかび抵抗性試験を J I S K 2 9 1 1-1981 かび抵抗性試験方法に準拠して行った。

被塗布紙としてはライナー紙を使用した。塗布は、ペーカー式アプリケーション 5 ケーター (安田精機製作所製) を用い、膜厚  $1 \mu\text{m}$  および  $3 \mu\text{m}$  の条件で行った。各薬剤を両面に塗布後、 $60^\circ\text{C}$  で 1 時間、送風乾燥することにより、目的の塗布重量を有する試験片 ( $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ ) を作成した。

(使用かび) 試験例 9 と同じかびの孢子懸濁液

得られた結果を第 8 図および第 9 図に示す。

10 第 8 図は、銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量  $0.14 \text{ g/m}^2$  で塗布したときのかびの生育状態である。

第 9 図は、銀含有複合蛋白質③をライナー紙に塗布量  $0.42 \text{ g/m}^2$  で塗布したときのかびの生育状態である。

また、かび抵抗性試験の結果を第 11 表に示す。

15

第 11 表

塗布量 試験片 判定値	銀含有複合蛋白質③ 0.14 g/m <sup>2</sup>			銀含有複合蛋白質③ 0.42 g/m <sup>2</sup>			対照 未塗布
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3	
判定値	2	3	3	3	3	3	1

(判定値)

- 1 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の 1/3 を超える。  
 2 : 菌糸の発育部分の面積が全面積の 1/3 を超えない。  
 3 : 菌糸の発育が認められない。

第 8 図、第 9 図および第 11 表の結果から、銀含有複合蛋白質③は、  
 塗布量 0.14 g/m<sup>2</sup> および 0.42 g/m<sup>2</sup> で両面塗布したライナー  
 紙においても良好なカビ抵抗性を付与し得ることがわかった。

#### 試験例 13 [銀含有複合蛋白質塗布紙の走査電子顕微鏡観察]

試験例 9 において、銀含有複合蛋白質①、銀含有複合蛋白質③および  
 公知の銀含有抗菌剤である Zeomic を塗布したコピー紙について、

走査電子顕微鏡にて表面観察を行った。

得られた結果を第10～12図に示す。

第10図は、銀含有複合蛋白質①を塗布したコピー紙の表面状態である。

5 第11図は、銀含有複合蛋白質③を塗布したコピー紙の表面状態である。

第12図は、Zeomicを塗布したコピー紙の表面状態である。

第10図および第11図から、銀含有複合蛋白質①および③は、紙表面においてパルプ繊維の間を充填するように膜状となり、密着している  
10 のが観察される。一方、第12図から、公知の銀含有抗菌剤であるZeomicは、紙表面に微細な粒子として付着しているのが観察される。しかし、この粒子は手指で紙表面に触れるだけで容易に脱落するものであった。

このことからZeomicのような無機系の銀抗菌剤を紙表面に塗布  
15 して用いる場合には、樹脂系バインダー（接着剤や結合剤）を必要とすることがわかる。これに対して本発明の銀含有複合蛋白質は、その原料である蛋白質に由来する製膜性や糊効果などの性質を有しているので、接着剤や結合剤を用いなくても紙への塗布が可能である。

#### 20 試験例14 [銀含有複合蛋白質塗布紙のKBBサイズ度試験]

試験例9において、銀含有複合蛋白質①、銀含有複合蛋白質③および公知の銀含有抗菌剤であるZeomicを塗布したコピー紙について、JIS P8122に準拠してKBBサイズ度試験を行った。試験には、安田精機（株）製のオートマチック式KBBサイズ度測定器を用いた。

25 得られた結果を第12表に示す。

第12表  
(未塗布紙) 市販コピー紙: KBBサイズ度 平均86.9秒

銀含有複合蛋白質① 塗布量 (g/m <sup>2</sup> )	KBBサイズ度 (秒)	銀含有複合蛋白質③ 塗布量 (g/m <sup>2</sup> )	KBBサイズ度 (秒)	Zeomic 塗布量 (g/m <sup>2</sup> )	KBBサイズ度 (秒)
1	56.7	1	102	1	115.8
2	1600.0	2	125	2	116.4
5	3800.0	4	162	10	122.0

注) 塗工量は両面合わせた量で表示。

第12表の結果から、銀含有複合蛋白質①および銀含有複合蛋白質③を塗布したコピー紙では、塗布量の増加とともにサイズ度が増大することがわかる。特に、銀含有複合蛋白質①におけるサイズ度の増大は顕著である。一方、Zeomicを塗布したコピー紙では、若干ながらサイズ度の増大が見られる。これは紙表面にZeomic粒子が多量に付着

し、その厚みの増加に伴って、電解液の浸透に時間を要するようになり、  
これが見かけ上、サイズ度の増大となって表れたものと考えられる。

試験例 15 [銀含有複合蛋白質を塗布したライナー紙の抗菌性試験]

- 5      銀含有複合蛋白質⑤～⑦を塗布した紙片において、J I S   L 1 9 0  
2 に準拠して抗菌性試験を行った。

試験には、試験例 1 1 において塗布した試験片を予め 1 8 m m × 1 8  
m m に切断したものを試験片として用いた。

- 供試菌であるスタヒロコッカス・アウレウス IF0 12732 を S C D 寒天  
10   培地に画線し、3 7 ° C にて 2 4 ～ 4 8 時間培養した。培養後、1 白金耳  
を取り、S C D 培地を 5 m l 入れた L 字管に接種し、3 7 ° C にて 1 8 時  
間培養した。さらに、その培養菌液を滅菌生理食塩水で 1 0 倍希釈し、  
6 6 0 n m における吸光度が 0 . 1 となるように S C D 培地で希釈する  
ことで生菌数を  $1 \sim 2 \times 10^8$  個 / m l とした。氷冷した S C D 培地の  
15   2 0 倍希釈液でこの菌液を希釈し、生菌数  $1 \pm 0 . 3 \times 10^5$  個 / m l  
として試験菌とした。

- 未塗布紙を 6 片、塗布紙を 3 片用意した。1 2 1 ° C、1 5 分間オート  
クレーブ滅菌したバイアルの底部に各試験片を置いた。その後、予め用  
意した試験菌の 0 . 2 m l を各試験片の数ヶ所に均等に接種し、3 7 ° C  
20   にて 1 8 時間培養した。

培養後、各バイアル中に生理食塩水 2 0 m l を加えて試験管ミキサー  
にて攪拌（5 秒間、5 回）することにより、残存菌を洗い出した。

- 各洗い出し液 1 m l を取り、滅菌生理食塩水 9 m l に加えた。さらに、  
この希釈液 1 m l を取り、滅菌生理食塩水 9 m l に加えて希釈液を調製  
25   した。調製した希釈液の 1 m l ずつを 2 枚のシャーレに取り、S C D 寒

天培地を注入し、37℃にて48時間培養した。培養後のコロニー数を計測し、塗布紙における抗菌効果を判定した。

得られた結果を第13～16表に示す。なお、表中の「aE+b」は「 $a \times 10^b$ 」を意味する

5

10

15

20

25

第13表

(未塗布試料片の接種直後の生菌数)

試料名	試料片 番号	菌数測定 シャーレ	シャーレの 菌数 (個/ml)	各試料片の生菌数 (個/ml)	未塗布試料片の生菌数 の平均値(個/ml)
未塗布試料	1	1-1	401	8.5E+4	8.0E+4
		1-2	452		
未塗布試料	2	2-1	417	8.3E+4	
		2-2	414		
未塗布試料	3	3-1	355	7.2E+4	
		3-2	360		

菌数測定時の希釈倍率 R=10

第14表

(未塗布試料片の18時間培養後の生菌数)

試料名	試料片 番号	菌数測定 シャーレ	シャーレの 菌数 (個/ml)	各試料片の生菌数 (個/ml)	未塗布試料片の生菌数 の平均値(個/ml)
未塗布試料	1	1-1	261	5.8E+5	5.9E+5
		1-2	316		
未塗布試料	2	2-1	265	6.0E+5	
		2-2	337		

菌数測定時の希釈倍率 R=100

第15表

(塗布試料片の18時間培養後の生菌数)

試料名	試料片 番号	菌数測定 のシャーレ	シャーレ の菌数 (個/ml)	各試料片の 生菌数 (個/ml)	静菌 活性値	殺菌 活性値	増減 活性値
銀含有複合 蛋白質⑤ 0.15g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	0	2E+3	2.5	1.6	2.5
		1-2	1				
	2	2-1	0	<1E+3	>2.8	>1.9	2.8
		2-2	0				
	3	3-1	16	5.5E+4	1.0	0.16	1.0
		3-2	39				
銀含有複合 蛋白質⑤ 0.45g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	0	2E+3	2.5	1.6	2.5
		1-2	2				
	2	2-1	4	4E+3	2.2	1.3	2.2
		2-2	4				
	3	3-1	0	<1E+3	>2.8	>1.9	>2.8
		3-2	0				
銀含有複合 蛋白質⑤ 0.90g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	4	3E+3	2.3	1.4	2.3
		1-2	2				
	2	2-1	0	<1E+3	>2.8	>1.9	>2.8
		2-2	0				
	3	3-1	23	3.6E+4	1.2	0.35	1.2
		3-2	13				
銀含有複合 蛋白質⑥ 0.15g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	1	3E+3	2.3	1.4	2.3
		1-2	2				
	2	2-1	0	<1E+3	>2.8	>1.9	>2.8
		2-2	0				
	3	3-1	1	6E+3	2.0	1.1	2.0
		3-2	5				
銀含有複合 蛋白質⑥ 0.45g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	0	1E+3	2.8	1.9	2.8
		1-2	1				
	2	2-1	0	1E+3	2.8	1.9	2.8
		2-2	1				
	3	3-1	17	2.8E+4	1.3	0.46	1.3
		3-2	11				
銀含有複合 蛋白質⑥ 0.90g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	0	<1E+3	>2.8	>1.9	>2.8
		1-2	0				
	2	2-1	0	<1E+3	>2.8	>1.9	>2.8
		2-2	0				
	3	3-1	6	8E+3	1.9	1.0	1.9
		3-2	2				

菌数測定時の希釈倍率 R = 100

(表15のつづき)

第16表

試料名	試料片 番号	菌数測定 のシャーレ	シャーレ の菌数 (個/ml)	各試料片の 生菌数 (個/ml)	静菌 活性値	殺菌 活性値	増減 活性値
銀含有複合 蛋白質⑦ 0.15g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	3	6E+3	2.0	1.1	2.0
		1-2	3				
	2	2-1	3	7E+3	1.9	1.1	1.9
		2-2	4				
	3	3-1	28	4.5E+4	1.1	0.25	1.1
		3-2	17				
銀含有複合 蛋白質⑦ 0.45g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	52	1.5E+5	0.59	0.27	0.59
		1-2	99				
	2	2-1	3	3E+3	2.3	1.4	2.3
		2-2	0				
	3	3-1	2	5E+4	1.1	0.20	1.1
		3-2	3				
銀含有複合 蛋白質⑦ 0.90g/m <sup>2</sup> 塗布	1	1-1	12	2.1E+4	1.4	0.58	1.4
		1-2	9				
	2	2-1	12	1.2E+4	1.7	0.82	1.7
		2-2	0				
	3	3-1	9	2.3E+4	1.4	0.54	1.4
		3-2	14				
未塗布	1	1-1	261	5.8E+5	0	-	0
		1-2	316				
	2	2-1	265	6.0E+5	0	-	0
		2-2	337				

菌数測定時の希釈倍率 R = 100

抗菌効果の判定は、以下に示す数式により求められる静菌活性値、殺菌活性値および増減値差により行った。

$$\text{殺菌活性値 } L = M a - M c$$

$$\text{静菌活性値 } S = M b - M c$$

5             $M a$  : 未塗布試料の接種直後の生菌数 (3 試験片の平均) の常用対数値

$M b$  : 未塗布試料の 18 時間培養後の生菌数 (2 試験片の平均) の常用対数値

$M c$  : 塗布試料の 18 時間培養後の生菌数の常用対数値

10            増減値差 =  $\log (B / A) - \log (C / A)$

$A$  : 未塗布試料の接種直後の生菌数 (3 試験片の平均)

$B$  : 未塗布試料の 18 時間培養後の生菌数 (2 試験片の平均)

## C : 塗布試料の18時間培養後の生菌数

銀含有複合蛋白質⑤～⑦を塗布した紙片のいずれの試験片においても、シャーレ中の菌数はゼロにまで抑制されているケースが多かった。また、静菌活性値がおよそ2以上、殺菌活性値が1以上、増減値差が2以上を示した。

以上のことから、未塗布試験片に比べて、塗布試験片では抗菌作用が確認された。

本発明の水不溶性の銀含有複合蛋白質は、蛋白質中の活性チオール基の含有割合が0.1～200  $\mu$ モル/gである水可溶性の蛋白質と銀塩とから形成されてなる。

本発明の銀含有複合蛋白質は、食品や化粧品分野などにおいて使用されている蛋白質を原料とするものであり、極めて安全性が高い。また、抗菌・抗かび性の銀が蛋白質から容易に遊離することがなく、銀含有率が高い水準で維持される。

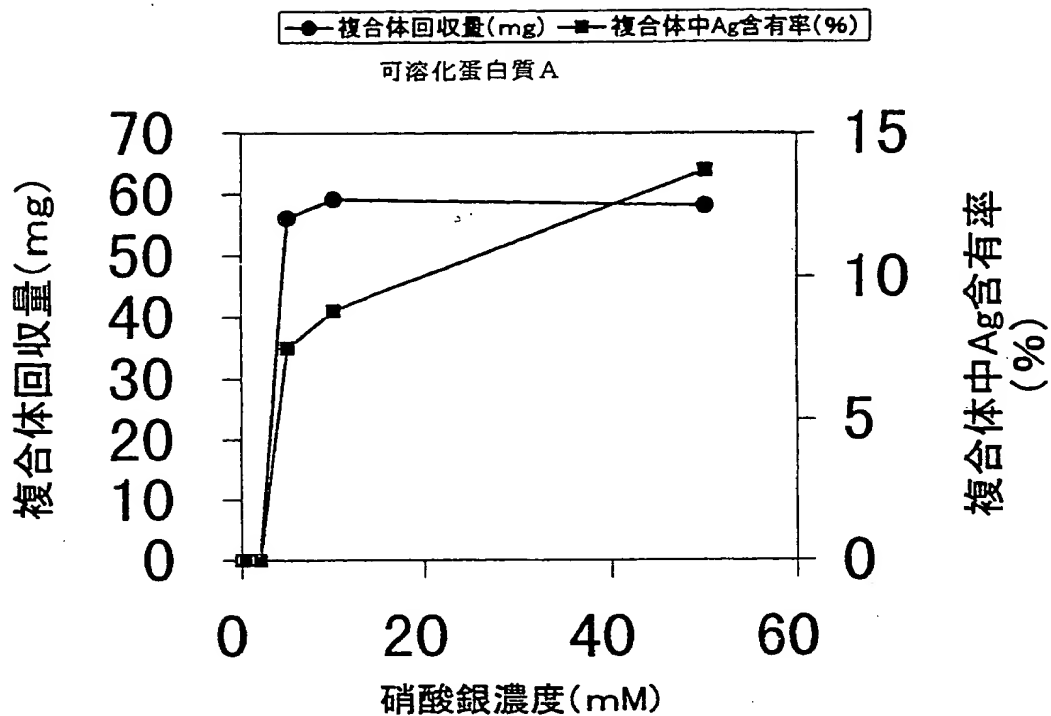
したがって、本発明の銀含有複合蛋白質は、抗菌・抗かび剤として各種分野、中でも、抗菌・抗かび紙として有用である。

## 請 求 の 範 囲

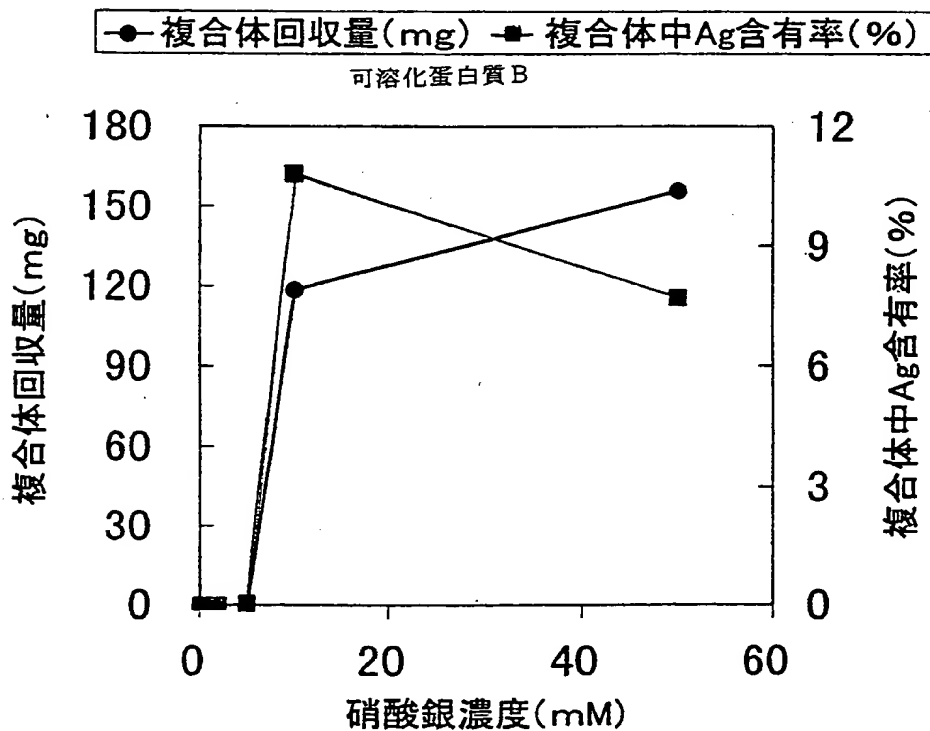
1. 蛋白質中の活性チオール基の含有割合が0.1～200  $\mu$ モル／gである水可溶性の蛋白質と銀塩とから形成されてなる水不溶性の銀含有複合蛋白質。
- 5 2. 水可溶性の蛋白質が、ホエー蛋白質またはその加水分解物もしくは水可溶化物であるか、あるいは卵殻膜蛋白質の加水分解物もしくは水可溶化物である請求項1に記載の銀含有複合蛋白質。
3. ホエー蛋白質が、乳糖を予め除去したものである請求項2に記載
- 10 の銀含有複合蛋白質。
4. 卵殻膜蛋白質の加水分解物が、卵殻膜のアルカリ加水分解処理により得られたものである請求項2に記載の銀含有複合蛋白質。
5. 銀塩が、硝酸銀または酢酸銀である請求項1に記載の銀含有複合蛋白質。
- 15 6. 銀含有複合蛋白質が、蛋白質の水溶液に攪拌下で、銀塩の水溶液を徐々に加えて、水中の銀イオン濃度を徐々に上げる方法により得られる請求項1に記載の銀含有複合蛋白質。
7. 銀含有複合蛋白質中の蛋白質と銀塩の割合が、蛋白質1 gに対して、銀塩0.2～3 gである請求項1に記載の銀含有複合蛋白質。
- 20 8. 請求項1～7のいずれか1つに記載の銀含有複合蛋白質を有効成分として含有する抗菌・抗かび剤。
9. 請求項8に記載の抗菌・抗かび剤で紙と処理された抗菌・抗かび紙。
10. 処理が塗布からなる請求項9に記載の抗菌・抗かび紙。
- 25 11. 塗布量が、紙1 m<sup>2</sup>あたり0.01～10 gである請求項10に

記載の抗菌・抗かび紙。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



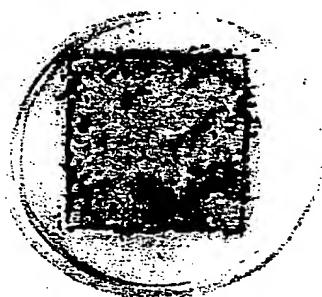
第1図



第2図

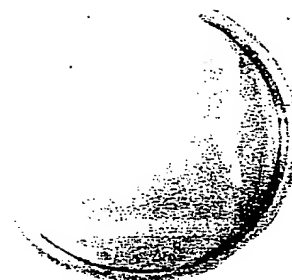
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

銀含有複合蛋白質②



未塗布

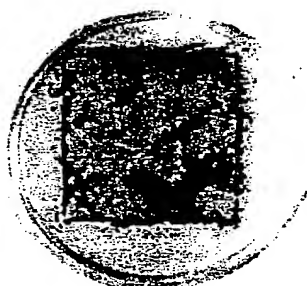
[1]



塗布量  $1 \text{ g/m}^2$

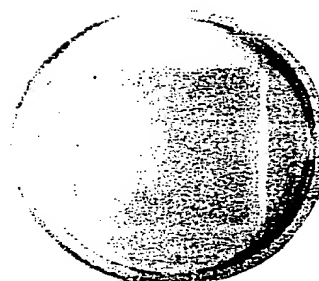
[3]

(a)



未塗布

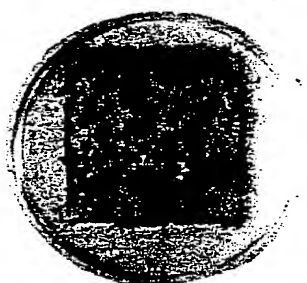
[1]



塗布量  $2 \text{ g/m}^2$

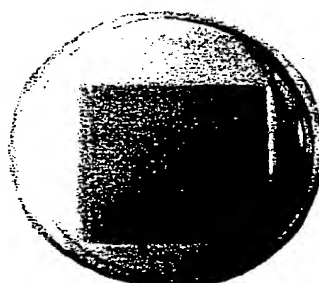
[3]

(b)



未塗布

[1]



塗布量  $5 \text{ g/m}^2$

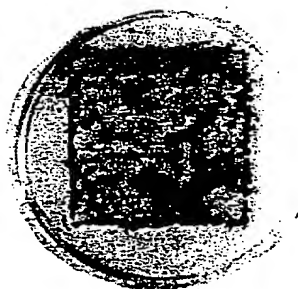
[3]

(c)

第3図

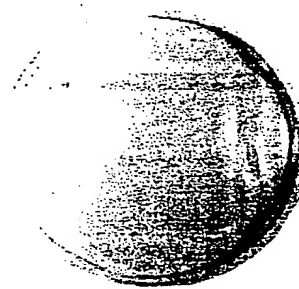
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

銀含有複合蛋白質③



未塗布

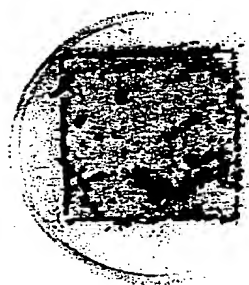
[1]



塗布量  $1 \text{ g/m}^2$

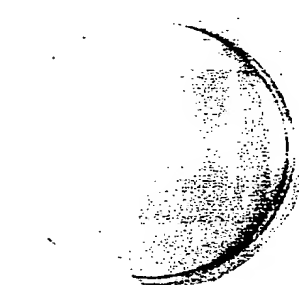
[3]

(a)



未塗布

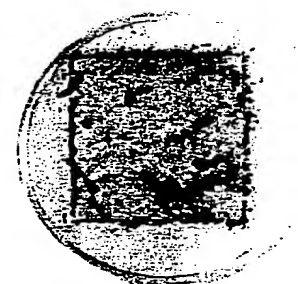
[1]



塗布量  $2 \text{ g/m}^2$

[3]

(b)



未塗布

[1]



塗布量  $4 \text{ g/m}^2$

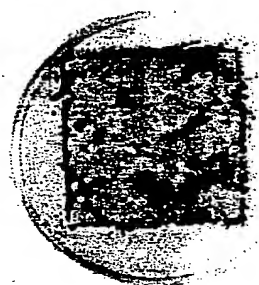
[3]

(c)

第4図

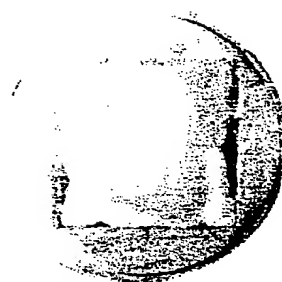
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Zeomic



未塗布

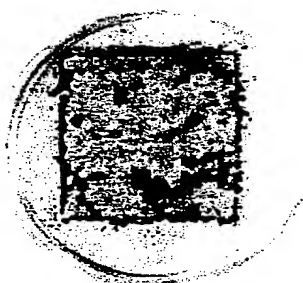
[1]



塗布量  $1 \text{ g/m}^2$

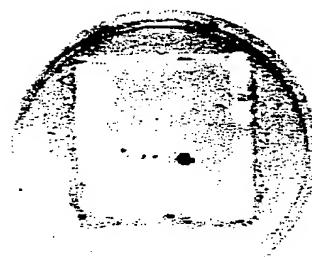
[2]

(a)



未塗布

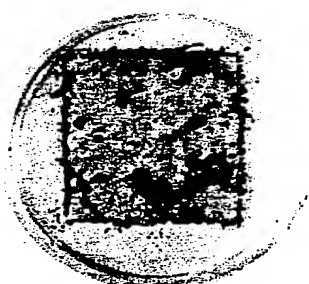
[1]



塗布量  $2 \text{ g/m}^2$

[2]

(b)



未塗布

[1]



塗布量  $10 \text{ g/m}^2$

[3]

(c)

第5図

**THIS PAGE BLANK (USP 10)**

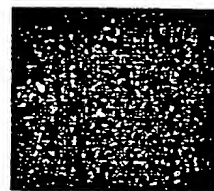
銀含有複合蛋白質③

菌 株：*Neosartorya fischeri*

試験片：片面  $1 \mu\text{m}$  ( $0.14 \text{ g/m}^2$ ) 塗布 (両面塗布)

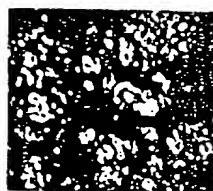


未塗布



塗布

(No. 1)

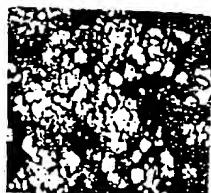


未塗布

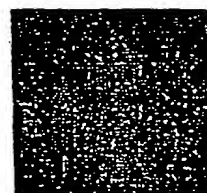


塗布

(No. 2)



未塗布



塗布

(No. 3)

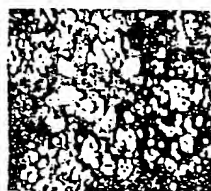
第6図

THIS PAGE BLANK (USPTO)

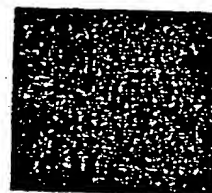
銀含有複合蛋白質③

菌 株 : *Neosartorya fischeri*

試験片 : 片面  $3 \mu\text{m}$  ( $0.42 \text{ g/m}^2$ ) 塗布 (両面塗布)

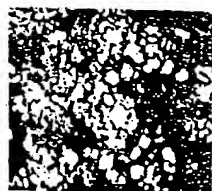


未塗布

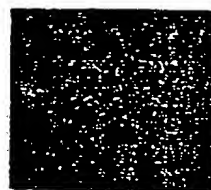


塗布

(No. 1)

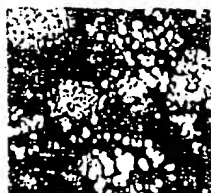


未塗布

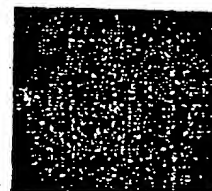


塗布

(No. 2)



未塗布



塗布

(No. 3)

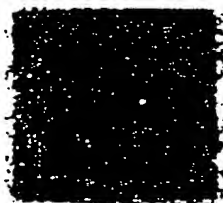
第 7 図

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

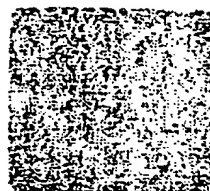
銀含有複合蛋白質③

菌 株：J I S標準5菌株

試験片：片面 $1\mu\text{m}$  ( $0.14\text{g}/\text{m}^2$ ) 塗布 (両面塗布)



未塗布

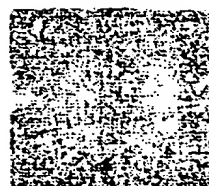


塗布

(No. 1)



未塗布

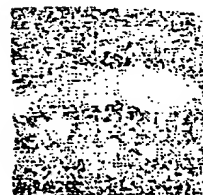


塗布

(No. 2)



未塗布



塗布

(No. 3)

第8図

THIS PAGE BLANK

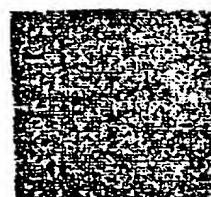
銀含有複合蛋白質③

菌 株：J I S標準5菌株

試験片：片面 $3\mu\text{m}$  ( $0.42\text{g}/\text{m}^2$ ) 塗布 (両面塗布)



未塗布

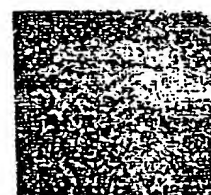


塗布

(No. 1)



未塗布

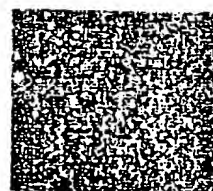


塗布

(No. 2)



未塗布



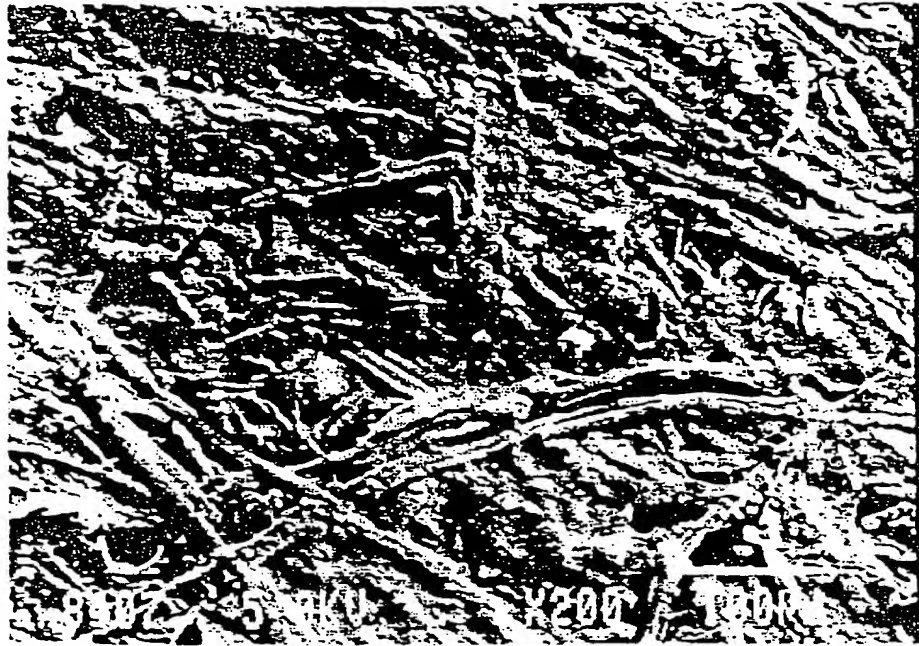
塗布

(No. 3)

第9図

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

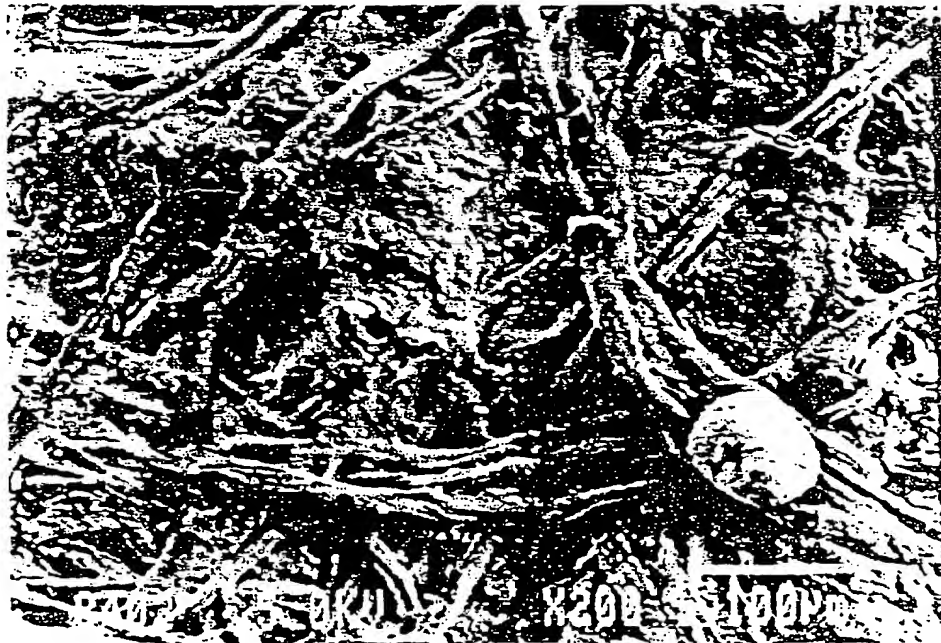
銀含有複合蛋白質① 塗布コピー紙



100  $\mu$ m

第10図

銀含有複合蛋白質③ 塗布コピー紙



100  $\mu$ m

第11図

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Zeomic

塗布コピー紙



100  $\mu$ m

第12図

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02053

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> C07K14/46, A61K38/02, A61P31/04, A61P31/10,  
B32B33/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> C07K14/46, A61K38/02, A61P31/04, A61P31/10,  
B32B33/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 6-65013, A (Taiyo Kagaku Co., Ltd.), 12 August, 1992 (12.08.92) (Family: none)	1-11
A	JP, 8-188513, A (Shokuhin Sangyo Eco Process Gijutsu Kenkyu Kumiai), 23 July, 1996 (23.07.96) (Family: none)	1-11
A	JP, 8-258235, A (Yamato Kagaku Kogyo K.K.), 08 October, 1996 (08.10.96) (Family: none)	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not

considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing

date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is

cited to establish the publication date of another citation or other

special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other

means

"P" document published prior to the international filing date but later

than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or

priority date and not in conflict with the application but cited to

understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be

considered novel or cannot be considered to involve an inventive

step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be

considered to involve an inventive step when the document is

combined with one or more other such documents, such

combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
05 June, 2000 (05.06.00)

Date of mailing of the international search report  
13 June, 2000 (13.06.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C07K14/46, A61K38/02, A61P31/04, A61P31/10,  
B32B33/00

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C07K14/46, A61K38/02, A61P31/04, A61P31/10,  
B32B33/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 6-65013, A (太陽化学株式会社) 12. 8月. 1992 (12. 08. 92) ファミリーなし	1-11
A	JP, 8-188513, A (食品産業エコ・プロセス技術研究組合) 23. 7月. 1996 (23. 07. 96) ファミリーなし	1-11
A	JP, 8-258235, A (ヤマト化学工業株式会社) 8. 10月. 1996 (08. 10. 96) ファミリーなし	1-11

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05. 06. 00

国際調査報告の発送日

13.06.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本間 夏子



4N

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**